

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-189662

(43)公開日 平成9年(1997)7月22日

| | | | | |
|--------------------------|-------|--------|---------------|--------|
| (51)Int.Cl. ⁶ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I | 技術表示箇所 |
| G 0 1 N 21/76 | | | G 0 1 N 21/76 | |
| 21/78 | | | 21/78 | C |
| 27/416 | | | 33/543 | 5 7 5 |
| // G 0 1 N 33/543 | 5 7 5 | | 27/46 | U |

審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全 9 頁)

(21)出願番号 特願平8-731

(22)出願日 平成8年(1996)1月8日

(71)出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72)発明者 宮原 裕二

東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地

株式会社日立製作所中央研究所内

(72)発明者 梶山 智晴

東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地

株式会社日立製作所中央研究所内

(72)発明者 田尾 龍治

茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株

式会社日立製作所計測器事業部内

(74)代理人 弁理士 平木 祐輔

最終頁に続く

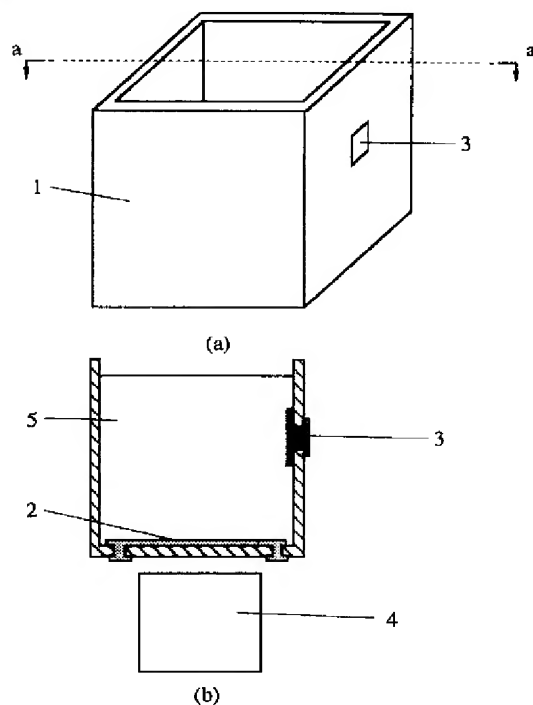
(54)【発明の名称】 電気化学発光セル及び電気化学発光分析装置

(57)【要約】

【課題】 高感度に電気化学発光を検出する電気化学発光セルを提供する。

【解決手段】 ガラス性の試料セル1の底面に透明電極2を形成して作用極とし、作用極に試料を接触させて配置し、試料セル1の底部下方に光検出器4を配置する。透明電極代わりに多孔性薄膜電極又は網目状導電性電極を用いてもよい。

【効果】 作用極上に捕捉された磁気ビーズに固定化された発光試薬からの発光は作用極及び透明基板を透過して光検出器に到達する。作用極表面で散乱される光はごくわずかであるので、電気化学発光を直接に効率良く検出することができ、高感度測定を行うことが可能となる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 少なくとも作用極と対極を含む複数の電極を備え、前記電極に電圧を印加して試料中に含有される発光試薬の電気化学発光を検出する電気化学発光セルにおいて、前記作用極は、透明電極であり、少なくとも一部が透明なセルの底面上に形成されていることを特徴とする電気化学発光セル。

【請求項2】 前記透明電極はITO又は酸化スズで作製されていることを特徴とする請求項1記載の電気化学発光セル。

【請求項3】 少なくとも作用極と対極を含む複数の電極を備え、前記電極に電圧を印加して試料中に含有される発光試薬の電気化学発光を検出する電気化学発光セルにおいて、前記作用極は、多孔性薄膜電極であり、少なくとも一部が透明なセルの底面上に形成されていることを特徴とする電気化学発光セル。

【請求項4】 前記多孔性薄膜電極は、白金、パラジウム、ルテニウム、金、銀又はカーボンをスパッタリング、真空加熱蒸着又は電子ビーム蒸着することにより形成され、膜厚が200nm以下であることを特徴とする請求項3記載の電気化学発光セル。

【請求項5】 少なくとも作用極と対極を含む複数の電極を備え、前記電極に電圧を印加して試料中に含有される発光試薬の電気化学発光を検出する電気化学発光セルにおいて、前記作用極は、網目状電極であり、少なくとも一部が透明なセルの底面上に形成されていることを特徴とする電気化学発光セル。

【請求項6】 前記網目状電極は、白金、パラジウム、ルテニウム、金、銀又はカーボンをスパッタリング、真空加熱蒸着又は電子ビーム蒸着により成膜し、フォトリソグラフィ技術及びエッチング技術によりパターン形成したものであることを特徴とする請求項5記載の電気化学発光セル。

【請求項7】 前記セルの底面は、ガラス、アクリル又はポリカーボネイトからなり、300nm～1500nmの波長の光を透過させることを特徴とする請求項1～6のいずれか1項記載の電気化学発光セル。

【請求項8】 表面に作用極が形成された透明な下部支持基板と、流路となる貫通部が設けられたスペーサと、前記スペーサの流路に接続される試料導入部及び試料排出部を備え表面に対極が形成された上部支持基板とが液密に重ねられた構造を有し、前記作用極は光を透過させることができることを特徴とする電気化学発光セル。

【請求項9】 請求項1～8のいずれか1項に記載の電気化学発光セルと、前記セルの透明な底面を透過する光を検出する光検出器を備えることを特徴とする電気化学発光分析装置。

【請求項10】 請求項1～8のいずれか1項に記載の電気化学発光セルと、磁石と、光検出器とを含み、前記作用極と前記光検出器の相対位置及び前記作用極と前記

磁石の相対位置を変化させる手段を備えることを特徴とする電気化学発光分析装置。

【請求項11】 請求項1～8のいずれか1項に記載の電気化学発光セルと、前記作用極と前記対極の間に電圧を印加する手段と、光検出器とを含み、前記作用極に接触するように捕捉した試料中の発光試薬の電気化学発光を前記電気化学発光セルの透明な底面を介して検出することを特徴とする電気化学発光分析装置。

【請求項12】 前記発光試薬はトリス（ビピリジル）ルテニウム又はその誘導体であることを特徴とする請求項9～11のいずれか1項記載の電気化学発光分析装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、電気化学発光により液体中の化学成分を分析する装置に関し、特に医療用の高感度化学分析装置に関する。

【0002】

【従来技術】電気化学発光を利用し、血清中の蛋白質を測定する装置がクリニカルケミストリー、第37/9巻、1991年、第1534頁～第1539頁（Clinical Chemistry, 37/9(1991), pp1534-1539）に記載されている。この装置では、金の作用極と対極の間に電流を流し、銀／塩化銀電極と作用極との間に電圧を印加している。また、電極は不透明な金属電極で、電気化学発光は作用極上の試料層を介して光検出器で検出している。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】上記従来技術では磁気ビーズ上に蛋白質を固定化し、トリス（ビピリジル）ルテニウムを結合した抗体と反応させることで、最終的に磁気ビーズ上に発光試薬であるトリス（ビピリジル）ルテニウムを導入している。磁気ビーズは金の作用極上に磁石で捕捉され、作用極と対極の間に電流を流し、トリス（ビピリジル）ルテニウムと作用極を電気化学反応させる。

【0004】上記構成では磁気ビーズに結合したトリス（ビピリジル）ルテニウムのうち、作用極に接触するトリス（ビピリジル）ルテニウムのみが電気化学反応に関与して発光する。トリス（ビピリジル）ルテニウムから出射した光は金の作用極表面で反射して、作用極の上方に配置された光検出器に到達する。しかし、出射光の多くは作用極表面で散乱され、また作用極表面で反射した光のあるものは隣接する磁気ビーズで遮蔽されて光検出器に到達できない。したがって、光検出器は電気化学発光のうち一部分しか検出できないため検出効率が低く、感度が低いという問題があった。本発明は、電気化学発光の検出効率の高い電気化学発光セルを提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】上記目的は、透明電極、

多孔性薄膜電極又は網目状電極等からなり光を透過させることのできる作用極をセルの底面を構成する透明基板上に形成し、作用極に試料を接触させ、試料から発せられる電気化学発光を作用極及び透明なセル底面を介して光検出器で検出することによって達成される。

【0006】すなわち、本発明の電気化学発光セルは、少なくとも作用極と対極を含む複数の電極を備え、前記電極に電圧を印加して試料中に含有される発光試薬の電気化学発光を検出する電気化学発光セルにおいて、作用極は、透明電極であり、少なくとも一部が透明なセルの底面上に形成されていることを特徴とする。透明電極はITO又は酸化スズで作製することができる。

【0007】作用極は、多孔性薄膜電極としてもよい。多孔性薄膜電極は、白金、パラジウム、ルテニウム、金、銀又はカーボンをスパッタリング、真空加熱蒸着又は電子ビーム蒸着することにより形成することができる。作用極は、また網目状電極としてもよい。網目状電極は、白金、パラジウム、ルテニウム、金、銀又はカーボンをスパッタリング、真空加熱蒸着又は電子ビーム蒸着により成膜し、フォトリソグラフィ技術及びエッチング技術によりパターン形成することにより作製することができる。

【0008】セルは、ガラス、アクリル又はポリカーボネイト等からなり、300nm～1500nmの波長の光を透過させるのが好ましい。電気化学発光セルは、例えば、表面に作用極が形成された透明な下部支持基板と、流路となる貫通部が設けられたスペーサと、前記スペーサの流路に接続される試料導入部及び試料排出部を備え表面に対極が形成された上部支持基板とが液密に重ねられた構造とすることができる。

【0009】本発明による電気化学発光分析装置は、前述の電気化学発光セルと、セルの透明な底面を透過する光を検出する光検出器を備える。磁気ビーズを使用する場合には、磁石を備え、作用極と光検出器の相対位置及び作用極と磁石の相対位置を変化させる手段を備えるのが望ましい。発光試薬はトリス（ビビリジル）ルテニウム又はその誘導体とすることができる。

【0010】試料中に含まれる、磁気ビーズに結合したトリス（ビビリジル）ルテニウムは磁石により、透明電極、多孔性薄膜電極又は網目状電極からなる作用極上に捕捉される。作用極と対極の間に電圧を印加して電流を流し、作用極に接触するトリス（ビビリジル）ルテニウムを電気化学反応させて発光させる。作用極は光を通すことができ、かつセルの透明基板上に形成されているので、作用極上で発生した電気化学発光は作用極及び透明基板を透過して光検出器に到達する。したがって、作用極表面で散乱される光はごくわずかであるので、トリス（ビビリジル）ルテニウムから出射した光を直接に効率良く検出することができ、高感度測定を行うことが可能となる。

【0011】

【発明の実施の形態】以下、図面を参照して本発明の実施の形態を説明する。本発明の第1の実施の形態を図1に示す。（a）は斜視図、（b）は（a）のa-a'の線で切った断面図である。ガラスなどの透明な試料セル1の底面の内壁面に透明電極2を設け、側面の内壁面に白金などの貴金属材料からなる電極3を設けた。透明電極2及び電極3の一部は試料セル1の壁面を貫通し、外壁面の表面に露出して外部回路と接続できる構造となっている。底面の外壁面近傍には光検出器4が設置されており、試料セル内部における電気化学発光を、透明電極2及び試料セル底面を介して検出する。

【0012】試料中の目的成分を検出するためには、鉄などの磁化される材料等で形成されたビーズを利用する。すなわち、ビーズ表面を高分子膜で被覆し、その高分子膜上に目的成分と特異的に反応する抗体等を固定化する。他の場所に設置してある恒温槽で血清などの試料中の目的成分と上記抗体固定化ビーズとを反応させ、ビーズ上に抗体-目的成分結合体を形成させる。さらにトリス（ビビリジル）ルテニウムなどの発光試薬をラベルした抗体を上記抗体-目的成分結合体と反応させ、ビーズ表面に抗体-目的成分-ラベル抗体の結合体を形成し、トリス（ビビリジル）ルテニウムなどの発光試薬をビーズ表面に導入する。

【0013】以上のような反応を恒温槽中で進行させた後、血清試料及びビーズを含む混合溶液5を試料セル1に移し換え、さらにトリプロビルアミンなどの還元試薬を添加する。試料セル1を一定時間静止させると、混合溶液5中のビーズの一部あるいはすべては重力により試料セル底面の透明電極2の表面に沈殿する。この状態で透明電極2と電極3の間に適切な電圧を印加すると、透明電極に接触しているトリス（ビビリジル）ルテニウムなどの発光試薬が酸化され、トリプロビルアミンと反応して還元された後再び酸化されることを繰り返し、約620nmの光を持続的に発光する。

【0014】この発光を透明電極2及び試料セル1の底面を介して光電子増倍管等の光検出器4で検出し、発光強度から目的成分濃度を求める。発光波長の広がりを考慮すると、セル材料は300～1500nmの光に対して透明であることが望ましい。透明セル1はガラスの他、アクリル、ポリカーボネイト等の透明材料で作ることができる。

【0015】この実施の形態では、ビーズの大きさ及び重さが、電極との接触面積すなわち発光強度及び沈殿時間すなわち分析時間にそれぞれ影響を及ぼすので、ビーズの大きさ及び重さを最適化する必要がある。また、重力を利用してビーズを集めるので、最大の感度を得るためには、透明電極2の表面は重力の方向に対して垂直になるよう設置することが望ましい。本発明の第2の実施の形態を図2に示す。第2の実施の形態では、第1の実

施の形態と同型であるが、電極3をセル壁面から取り去った試料セル1を用いる。電極3の代わりに、セルの外部に設置した金属電極6を用いる。

【0016】複数個の上記セル1を支持体7に固定し、重力に対して垂直方向すなわち水平方向に移動させる。金属電極6及び光検出器4は、それぞれの中心線を一致させ、かつその中心線b-b'が重力の方向と平行になるように配置する。水平方向に移動する試料セル1は、セルの中心がb-b'に到達したとき一時停止させる。停止した状態で金属電極6が下方に移動し、試料セル1の中のトリプロピルアミンが添加された混合溶液5の中に浸される。また、試料セル1の底面に形成された透明電極2の一部は底面を貫通し、底面の表面に露出して外部回路と接続できる構造となっているので、外部回路との接続部8が上下に移動して、上記接続部に設けられた電極9を透明電極2に接触させて外部回路と接続する。

【0017】試料セル1がb-b'の位置に到達するまでに一定時間を要するので、その間に混合溶液5中のビーズの一部あるいはすべては重力により試料セル底面の透明電極表面に沈殿する。この状態で透明電極2と金属電極6の間に適切な電圧を印加すると、透明電極2に接触しているトリス（ビピリジル）ルテニウムなどの発光試薬が酸化、還元され、トリプロピルアミンとの反応を経て持続的に発光する。この発光を透明電極2及び試料セル1の底面を介して光検出器4で検出し、発光強度から目的成分濃度を求める。この方式では、試料セル1を順次測定位置に移動させることができるので、単位時間内に大量の試料中の目的成分濃度の測定が可能である。

【0018】本発明の第3の実施の形態を図3により説明する。第3の実施の形態で用いる試料セルはフロースルー型のセルであり、(a)図は斜視図、(b)図は(a)図のc-c'の線で切った断面図である。第1及び第2の実施の形態と同様に、他の場所に設置してある恒温槽で血清などの試料中の目的成分と磁化可能なビーズとを反応させ、ビーズ表面に抗体-目的成分-ラベル抗体の結合体を形成し、トリス（ビピリジル）ルテニウムなどの発光試薬をビーズ表面に導入する。

【0019】これらの混合溶液を入口10からフローセル12中に流し込み、出口11から外部に排出する。フロースルー型セル12は、セルの入口10及び出口11付近では流れ方向に垂直な面で切った断面形状は円形であるが、セルの中心部付近では流れ方向に垂直な面で切った断面形状が長方形である。円形断面部及び長方形断面部を結合する部分13ではセルがテーパ状に形成されており、断面積がゆるやかに変化している。このようなテーパ形状により試料中成分が滞ることなくセル中を流れることができ、キャリーオーバーを小さく抑えることができる。

【0020】セル12の長方形断面部の上面には不透明電極3、底面には透明電極2が形成されており、それぞ

れ信号線14で外部測定回路に接続されている。この例では、セルの入口から導入される混合溶液中の磁化可能なビーズを磁石15により透明電極2の表面に捕捉する。ビーズを透明電極2の表面に捕捉した後、透明電極2と不透明電極3の間に適切な電圧を印加して、透明電極2に接触しているトリス（ビピリジル）ルテニウムを発光させる。この発光を透明電極2及びセル12の壁面を介して光検出器4で検出する。この配置によると電極2、3を同形状として対向配置することができるため、電界が一ヶ所に集中することがなく、透明電極2の全面に捕捉した磁気ビーズの発光試薬を均一に発光させることができる。

【0021】磁石15によるビーズの捕捉と、光検出器4による電気化学発光の検出はほぼ同じ位置で行う必要があるため、セル12と光検出器4及び磁石15の相対的な位置を変化させることができる構造となっている。図3では磁石15を垂直方向、光検出器4を水平方向に移動させる機構を設置してある。磁石15でビーズを捕捉するときには磁石15が透明電極2近傍に移動され、電気化学発光を検出するときは光検出器4が透明電極2の近傍に移動される。

【0022】この実施の形態のフロースルー型セル12では、試料液と洗浄液を連続して交互に流すことができ、複数試料の迅速測定に有効である。また、複数試料の測定に対して、同一の透明電極2を用いることができるので電極間の性能のばらつきは問題とならず、高い精度で測定を行うことができる。第1から第3に示した実施の形態において、透明電極2の材料としてはインジウム及びスズの酸化物〔インジウムティンオキシサイド（ITO）〕又は酸化スズを用いることができる。

【0023】本発明の第4の実施の形態を図4により説明する。(a)は斜視図、(b)は各部を分解した図、(c)は(a)のd-d'の線で切った断面図を示す。この実施の形態の装置は、標準液、血清などが流れるフローセル部16と発光を検出する光検出器4から構成されている。フローセル部16は下部支持基板17、スペーサー18及び上部支持基板19を積層した構造である。標準液、血清などの液体試料は上部支持基板19に形成された一方のチューブ20によりフローセル中に導入され、他方のチューブ21から排出される。スペーサー18には中央部が幅広く、周辺部が狭くなるように菱形の溝22が形成されている。周辺部の狭い部分がそれぞれチューブ20及び21の開口部に位置合わせされ、菱形の溝22が液体試料が流れる流路となる。

【0024】下部支持基板17は透明であり、その表面には光透過性、多孔性薄膜又は網目状の導電性電極23が設けられており、その導電性電極23の一部が液体試料と接触し、作用極として機能する。作用極23を流れる電流信号はリード線24を介して外部測定回路に接続される。一方、上部支持基板19には白金、金などの金

属電極25が形成されており、金属電極25の一部が液体試料と接触し、対極として機能する。対極25の信号はリード線26を介して外部測定回路に接続される。

【0025】試料中に含有させたトリス（ビビリジル）ルテニウムなどの発光試薬を作用電極23上に捕捉し、作用極23と対極25の間に所定の電圧を印加して電流を流すと、トリス（ビビリジル）ルテニウムと作用極23が電気化学反応を起こし、トリス（ビビリジル）ルテニウムが約620nmの光を発光する。作用極23は光透過性、多孔性薄膜又は網目状であり、下部支持基板17は透明であるので、トリス（ビビリジル）ルテニウムから出射した光は作用極23及び透明基板17を透過して光検出器4に到達する。したがって、作用極23の表面で散乱される光はごくわずかであり、また試料溶液による吸収が無いので発光を効率良く、高感度に検出することができる。発光波長の広がりを考慮すると、透明基板材料17は約300～1500nmの光に対して透明であることが望ましい。

【0026】光透過性の作用極23は、例えばITOによって作製される。網目状の作用極23として、格子状の網目電極を用いた例を図5に示す。網目電極27は白金を材料とし、スパッタリング法又は電子ビーム蒸着法により薄膜形成した。格子パターンの形成には、格子状のマスクを用いて薄膜形成するか、リフトオフ法を用いることができる。リフトオフ法は半導体プロセスで用いられる方法であり、透明基板上にあらかじめホトレジストのパターンを形成しておき、全面に白金薄膜を形成した後ホトレジストを除去して、ホトレジストの無い部分に白金パターンを形成する。高い感度を得るためには、例えばビーズとの接触面積が最大になるよう白金格子の大きさを設計することが望ましい。上記方法によれば格子状のみではなく、任意のパターン形状の網目電極を形成することができる。

【0027】また、白金の厚さを、例えば200nm以下、好ましくは10nm以下にすれば、白金薄膜は連続した均一な厚さの膜ではなく、微細な形態は島状となる。電気的には上記島々は接触しているが、不均一な膜となり、半透明電極を形成することができる。これが前記した多孔性薄膜電極である。多孔性薄膜電極の一例である白金薄膜の微細構造の概念図を図6に示す。ガラスなどの下部支持基板17上に、0.03 Torrのアルゴンガス雰囲気中で、白金をターゲットとして高周波スパッタリングにより薄膜形成すると、図6(a)のように多くの島28がお互いに一部で接触した構造となる。この電極表面にビーズ29を捕捉すると、図6(b)に示すように、球状ビーズ29の表面は白金電極28と複数の箇所30、31で接触する可能性を持つ。したがって、電極28と接触した部分のビーズ29に固定化されているトリス（ビビリジル）ルテニウムが発光するので、1個のビーズから複数の発光を得ることができ、高

感度測定を行うことができる。一方、白金電極あるいは透明電極が均一な厚さを有する場合、球状ビーズと電極表面との接点は1箇所のみとなり、1個のビーズに対して1箇所の接触点のみが発光することになる。

【0028】以上のように島状の半透明電極では網目にしなくても光を透過するので、網目電極のように複雑な工程を経なくても製作することができ、製作時間及びコストを低減させることができ、かつ高感度測定を行うことができる。また、白金のように化学的に安定な材料を用いることができるので、長期安定性に優れたセルを作製することができる。

【0029】第4の実施の形態で説明した薄膜多孔性又は網目状の導電性電極は白金の他、パラジウム、ルテニウム、金、銀、カーボンを材料とすることができ、真空加熱蒸着又は電子ビーム蒸着の方法によっても形成することができる。本発明の第5の実施の形態を図7により説明する。図7(a)は部分断面正面図、図7(b)はその側面図である。第4の実施の形態のフローセル部16の下方に、光検出器4及び磁石15を移動可能に配置した。駆動機構としては、例えばナット33a、34aとボールネジ32aを組み合わせた駆動機構を用いることができる。すなわち、光検出器4及び磁石15をボールネジ32aで駆動されるナット33a、34a、及びボールネジ32aと平行に配置されたガイド棒32bが貫通するスライダ33bに固定する。36は、ボールネジ32aの支持部材である。図7(a)において、パルスモータ35を正回転あるいは逆回転させてボールネジ32aを正逆回転させると、光検出器4及び磁石15は一定距離を保ったまま右方あるいは左方に移動する。したがって、光検出器4又は磁石15を、フローセル16中の作用極23の下で透明基板近傍に移動して設置することができる。

【0030】トリス（ビビリジル）ルテニウムなどの発光試薬を磁化可能なビーズの表面に蛋白質を介して固定化し、血液などの試料と反応させた後、上記ビーズ及びトリプロピルアミンなどの試薬を含む液をフローセル中に導入する。そのときパルスモータ35を動作させ、磁石15を作用極23の下に設置すると、試料中のビーズは磁石15の引力により作用極23上に捕捉される。この状態で試料の流れを止め、パルスモータ35を動作させて磁石15を作用極の下から移動し、次にパルスモータ35を逆回転させて光検出器4を作用極23の下に移動させる。そして作用極23と対極25の間に電流を流すと作用極上でトリス（ビビリジル）ルテニウム及びトリプロピルアミンが電気化学反応し、ビーズに固定化されたトリス（ビビリジル）ルテニウムが発光する。この発光を透明な下部支持基板17を介して光検出器4で検出する。この方法によればトリス（ビビリジル）ルテニウムの発光を直接に光検出器で検知できるので高感度測定を行なうことができる。

【0031】本発明の第6の実施の形態を図8により説明する。これは図7の電気化学発光セルを用いた分析システムの構成を示すものである。試薬37、試料38又は洗浄液39をサンプリングプローブ40及びポンプ41により本発明の電気化学発光セル16に導入し、使用済み後は廃液ボトル42に廃棄する。電気化学発光セル16の下流には参照電極43が設置されており、電気化学発光セル中の作用極及び対極とともにポテンシオスタット44に信号線45で接続され、3電極法のポーラログラム測定システムを構成する。

【0032】電気化学発光セルの下方には、図7に示したように、光検出器4及び磁石15がボールネジ32aによって可動に配置されている。ボールネジ32aはパルスモータ25によって回転駆動され、パルスモータ35は信号線46を介して制御装置47により制御される。光検出器4からの信号は、信号線48により増幅器又はホトンカウOUNTER49に接続され、増幅器又はホトカウOUNTER49はポテンシオスタット44及び制御装置47とともにコンピュータ50に接続され、濃度計算などの演算処理が行なわれる。ポテンシオスタット44による電流の印加、パルスモータ32aによる磁石15及び光検出器4の移動、光検出器4による信号のサンプリングは相互に連携しあいながら第5の実施の形態で説明したような秩序にコンピュータ50により制御される。本システムにより、複数の試料を連続して、迅速にかつ高感度に測定することができる。

【0033】本発明の効果を図9に示す。図7の実施の形態において、作用極にインジウム・ティン・オキシド(Indium Tin Oxide)、対極に白金電極、透明基板に厚さ0.5mmのガラス基板、磁石に1.2テスラの永久磁石、光検出器に光電子増倍管を用い、図8の分析システムの中に組み込んで評価した。磁化可能なビーズの表面には Thyroid Stimulating Hormone (甲状腺刺激ホルモン、TSH) 抗体を固定化しておき、他の場所に設置した恒温槽中で、あらかじめ上記TSH抗体と試料中のTSHを反応させ、更に続いて発光試薬であるトリス(ビビリジル)ルテニウムでラベルしたTSH抗体をTSHと反応させた。すなわちビーズの表面にはTSH抗体-TSH-TSH抗体のサンドイッチ構造を介してトリス(ビビリジル)ルテニウムが固定化されたことになる。この磁気ビーズをトリプロピルアミンとともにフローセルに導入し、磁石で作用極上に捕捉する。作用極と対極の間に電流を流して、作用極近傍に存在するトリス(ビビリジル)ルテニウムを発光させ、その発光を透明基板を介して光電子増倍管で検出して、TSHの濃度を求めた。

【0034】図9の黒丸は、以上のようにして求めたT

SH濃度と光電子増倍管の出力の関係である。比較のために従来法によって求めたTSH濃度と光電子増倍管の出力の関係も白丸で示してある。この図より、本発明の電気化学発光セルを用いることにより飛躍的に高感度化することができることが分かる。

【0035】

【発明の効果】本発明によると、作用極上に捕捉されたビーズに固定化された発光試薬からの発光は作用極及び透明基板を透過して光検出器に到達する。したがって、作用極表面で散乱される光はごくわずかであるので、発光試薬から出射した光を直接に効率良く検出することができ、高感度測定を行うことが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1の実施の形態のバッチ型電気化学発光セルの概略図。

【図2】本発明の第2の実施の形態のバッチ型電気化学発光セルの概略図。

【図3】本発明の第3の実施の形態のフロー型電気化学発光セルの概略図。

【図4】本発明の第4の実施の形態のフロー型電気化学発光セルの概略図。

【図5】格子状の網目電極を用いたフロー型電気化学発光セルの概略図。

【図6】多孔性薄膜電極の概念図。

【図7】本発明の第5の実施の形態のフロー型電気化学発光セルシステムの概略図。

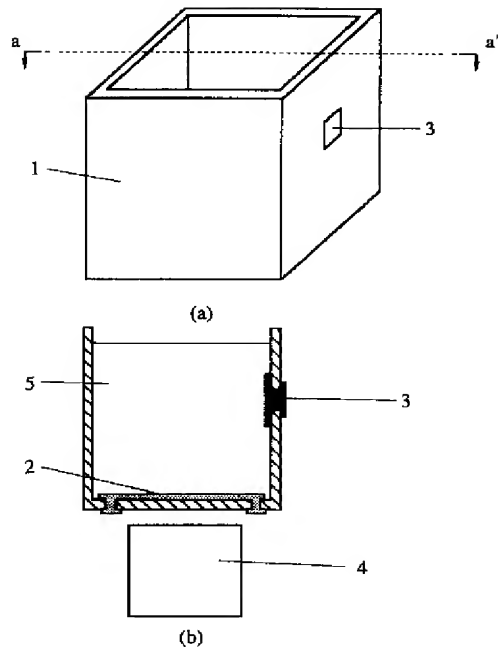
【図8】本発明の電気化学発光セルを用いた化学分析システムの構成図。

【図9】本発明の効果を示す図。

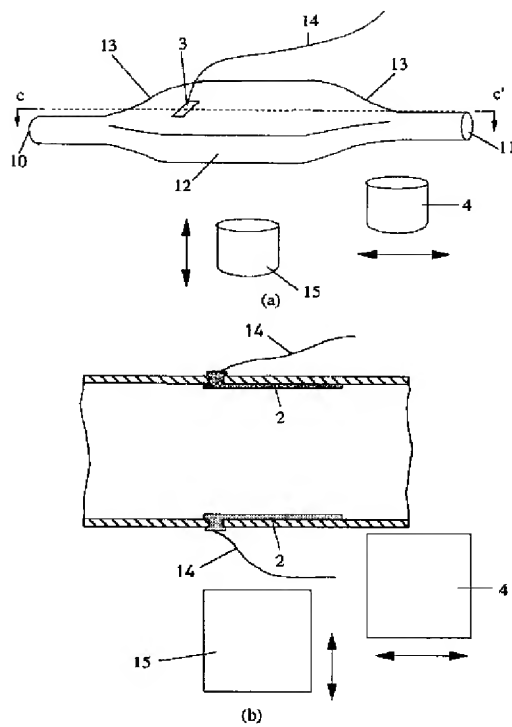
【符号の説明】

1…試料セル、2…透明電極、3…不透明電極、4…光検出器、5…混合溶液、6…金属電極、7…支持体、8…接続部、9…電極、10…入口、11…出口、12…フロースルー型セル、13…結合部分、14…信号線、15…磁石、16…フローセル部、17…下部支持基板、18…スペーサー、19…上部支持基板、20…チューブ、21…チューブ、22…溝、23…作用極、24…リード線、25…対極、26…リード線、27…格子状網目電極、28…白金電極、29…ビーズ、30…接触部、31…接触部、32a…ボールネジ、32b…ガイド棒、33a、34a…ナット、33b…スライダ、35…パルスモータ、36…支持部材、37…試薬、38…試料、39…洗浄液、40…サンプリングプローブ、41…ポンプ、42…廃液ボトル、43…参照電極、44…ポテンシオスタット、45…信号線、46…信号線、47…制御装置、48…信号線、49…ホトンカウOUNTER、50…コンピュータ

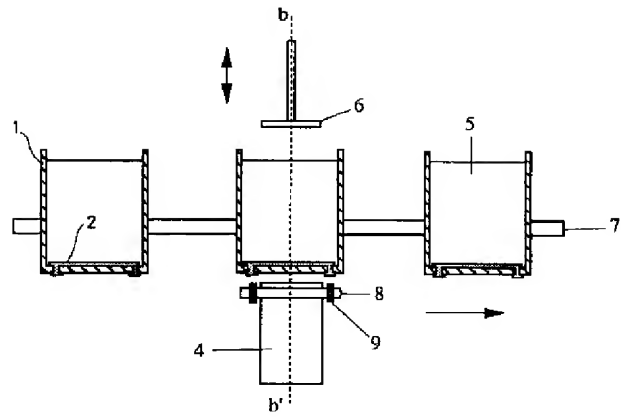
【図1】



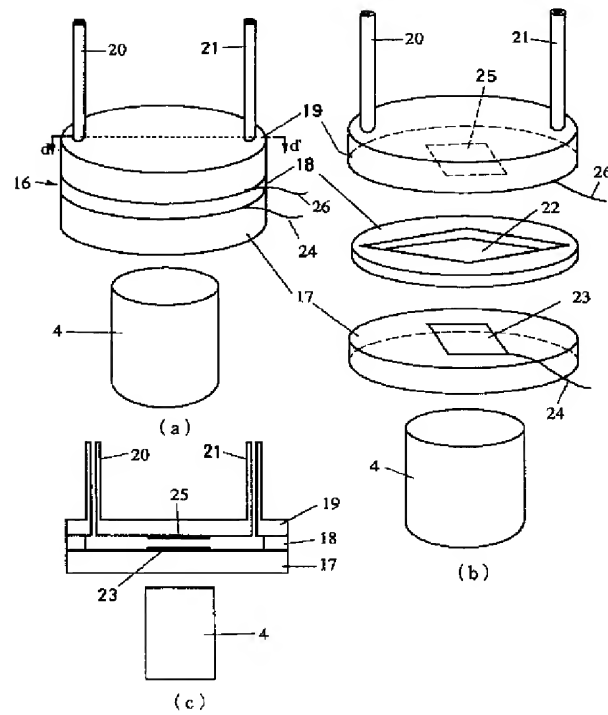
【図3】



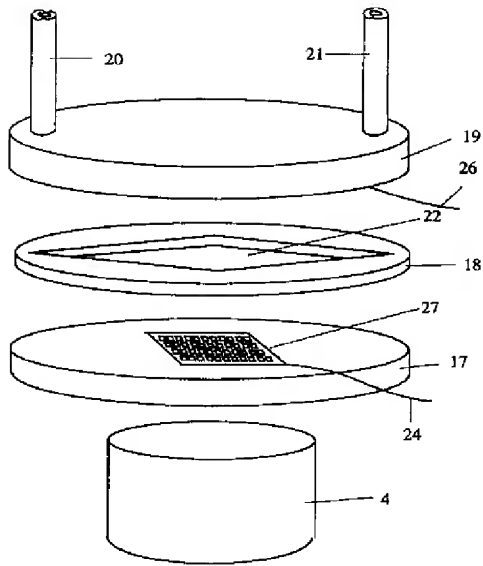
【図2】



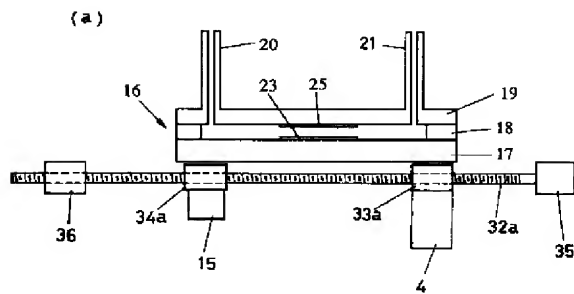
【図4】



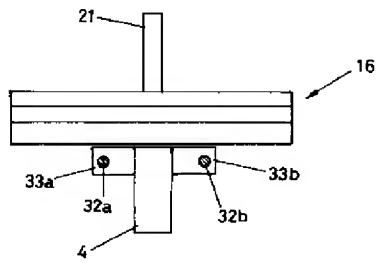
【図5】



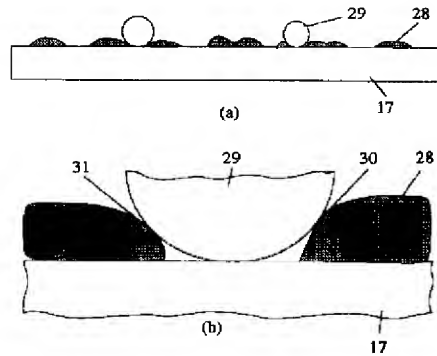
【図7】



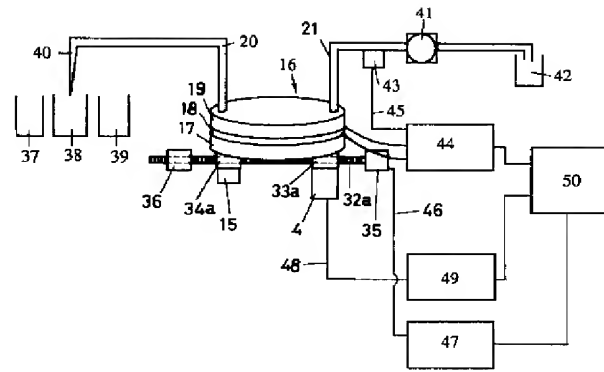
(b)



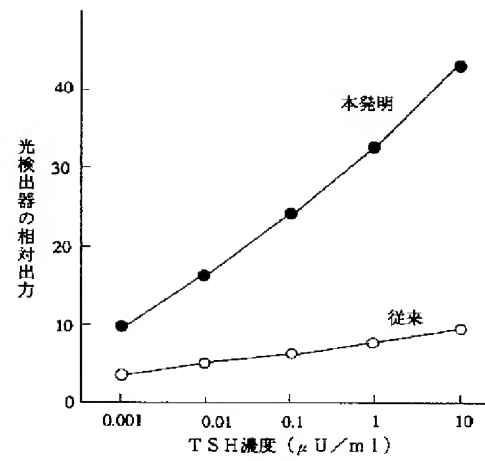
【図6】



【図8】



【図9】



フロントページの続き

(72)発明者 保田 健二
茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株
式会社日立製作所計測器事業部内